



HELSINGIN YLIOPISTO
HELSINGFORS UNIVERSITET
UNIVERSITY OF HELSINKI

**KLIINISEN TUOTANTOELÄINLÄÄKETIETEEN LAITOS
ELÄINLÄÄKETIETEELLINEN TIEDEKUNTA
HELSINGIN YLIOPISTO**

**AKUUTIN FAASIN PROTEIINIEN
YHTEYS NAUTOJEN
SORKKASAIRAUKSIIN**

**ELÄINLÄÄKETIETEEN LISENSIAATIN TUTKIELMA
2008
JONNA KURONEN**



Tiedekunta – Fakultet - Faculty		Laitos – Institution - Department	
Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Kliinisen tuotantoeläinlääketieteen laitos	
Tekijä - Författare – Author			
Jonna Kuronen			
Työn nimi – Arbetets title – Title			
Akuutin faasin proteiinien yhteys nautojen sorkkasairauksiin			
Oppiaine – Läroämne - Subject			
Työn laji – Arbetets art - Level		Aika – Datum – Month and year	Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages
Lisensiaatin tutkielma		02.04.2008	35
<p>Tiivistelmä – Referat -Abstract</p> <p>Työssä tutkittiin kahden akuutin faasin proteiinin, seerumin amyloidi A:n (SAA) ja haptoglobiinin (Hp), yhteyttä nautojen sorkkasairauksiin. Sekä SAA:n että Hp:n pitoisuuksien naudan seerumissa on todettu kohoavan erilaisten tulehdussairausten ja infektioiden yhteydessä. Tässä työssä haluttiin selvittää, reagoivatko nämä akuutin faasin proteiinit samalla tavalla sorkkasairauksiin. Aikaisempien tutkimustulosten perusteella oli oletettavaa, että kudostuho ja paikallinen tulehdusreaktio kohottaisi akuutin faasin proteiinien pitoisuuksia seerumissa.</p> <p>Työ toteutettiin Suidan koetilalla vuoden 2004 marraskuun ja vuoden 2006 tammikuun välisenä aikana. Ontuvien nautojen ja terveiden kontrollieläinten verinäytteistä tutkittiin seerumin amyloidi A (SAA) ja haptoglobiini (Hp). Kokeessa oli mukana 16 ontuvaa nautaa, jotka sairastivat anturan haavaumaa tai valkoviivan repeämää ja 17 kontrollieläintä. Ontuvilta nautoilta otettiin verinäyte heti, kun ontuma havaittiin. Samalla otettiin kontrolliverinäyte terveeltä naudalta. Sairastuneilta lehmillä otettiin verinäytteitä vielä kolmen päivän, viikon ja kahden viikon kuluttua ensimmäisestä näytteenotosta. SAA:n pitoisuus seerumissa oli kohonnut merkitsevästi kontrolliin verrattuna heti, kun ontuma havaittiin. Myös Hp:n pitoisuuksien keskiarvo sairailta kohosi, mutta ei tilastollisesti merkitsevästi.</p> <p>Tutkimuksen tulokset vahvistavat sitä käsitystä, että SAA on merkittävä akuutin faasin proteiini naudalla ja sen pitoisuus kohoaa nopeasti tulehdusreaktion yhteydessä. SAA:n osalta tulos oli hypoteesin mukainen. Tämän tutkimuksen tulosten perusteella SAA:n pitoisuus kohoaa naudan seerumissa luotettavasti ainakin anturan haavauman ja valkoviivan repeämän yhteydessä. Pitoisuuden nousua voisi hyödyntää tulehduksen voimakkuuden arvioinnissa. Lievempien sorkkasairauksien osalta pitäisi tehdä kuitenkin vielä lisätutkimuksia. Hp:n pitoisuuksien olisi voinut kuvitella kohoavan enemmän kuin mitä todettiin, mutta toisaalta Hp:n on aikaisemmissakin tutkimuksissa todettu reagoivan epävarmemmin ja vaativan voimakkaampia kliinisiä oireita kuin SAA:n pitoisuuden kohoaminen. Oireiden vakavuutta ei tämän tutkimuksen tuloksissa huomioitu.</p>			
Avainsanat – Nyckelpord –Keywords			
akuutin faasin proteiini, seerumin amyloidi-A, haptoglobiini, valkoviivan repeämä, anturahaavauma			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			
Työn johtaja: prof. Timo Soveri, työn ohjaajat: prof. Timo Soveri, ELL Minna Kujala, ELT Toomas Orro			

SISÄLLYSLUETTELO

1 JOHDANTO	2
1.1 Yleistä naudan jalkasairauksista	2
1.1.1 Ontuman mittaaminen	4
1.2 Aineenvaihdunnalliset sorkkasairaudet	5
1.2.1 Vertymät anturassa	5
1.2.2 Anturahaavauma	6
1.2.3 Valkoviivan repeämä	6
1.2.4 Sorkkakuume eli laminiitti	7
1.3 Tartunnalliset sorkkasairaudet	8
1.3.1 Sorkkavälin ihotulehdus	8
1.3.2 Kantasyöpymä	9
1.3.3 Sorkka-alueen ihotulehdus	9
1.3.4 Sorkkavälin ajotulehdus	10
1.3.5 Sorkkavälin liikakasvu	10
1.4 Muut jalkasairaudet	11
1.4.1 Nivel tulehdus	11
1.4.2 Ei-septinen artriitti	11
1.4.3 Selluliitti ja bursiitti	11
1.4.4 Lymfangiitti	12
1.4.5 Vertikaalinen murtumalinja sorkassa	12
1.5 Akuutin faasin proteiinit	12
1.5.1 Seerumin amyloidi A (SAA)	14
1.5.2 Haptoglobiini	15
1.5.3 α_1-hapan (acid) glykoproteiini (AGP, orosomucoid, seromucoid)	16
1.5.4 LBP	16
1.5.5 Fibrinogeeni (Fb)	17
1.5.6 Muita plasman proteiineja, jotka toimivat akuutin faasin tekijöinä	18
1.5.7 Muita tulehduksen indikaattoreita	18
1.5.8 Naudan valkosolut	18
2 AINEISTO JA MENETELMÄT	19
3 TULOKSET	20
4 POHDINTA	21

1 JOHDANTO

Työn tarkoituksena oli selvittää, aiheuttavatko sorkkasairaudet akuutin faasin proteiinien pitoisuuksien nousua. Tutkimuksessa selvitettiin akuutin faasin proteiinien, Haptoglobiinin (Hp) ja seerumin amyloidi A:n (SAA) pitoisuuksien muutosta naudan seerumissa sorkkasairauksien yhteydessä.

Tutkimus suoritettiin Suitian koetilalla marraskuun 2004 ja tammikuun 2006 välillä. Verinäytteitä otettiin ontuvista naudoista, joiden kliininen diagnoosi oli anturahaavauma tai valkoviivan repeämä, sekä terveistä kontroleista. Seerumeista tutkittiin Hp ja SAA, joita pidetään tärkeimpinä akuutin faasin proteiineina naudalla (Grönlund ym. 2005, Humblet ym. 2006).

Aikaisemmissa tutkimuksissa Hp:n ja SAA:n pitoisuuksien seerumissa on osoitettu nousevan naudalla erilaisten sekä kokeellisesti aiheutettujen että luonnollisten infektioiden ja tulehdusten seurauksena (Nielsen ym. 2004, Nikunen ym. 2007, Tourlomoussis ym. 2004). Sen perusteella voisi olettaa, että Hp:n ja SAA:n pitoisuudet naudan seerumissa kohoaisivat myös sorkkasairauksien yhteydessä. Monissa tutkimuksissa on havaittu, että SAA reagoi tulehdukseen herkemmin kuin Hp (Akerstedt ym. 2007, Gånheim ym. 2007, Heegaard ym. 2000, Horadogoda ym. 1999).

Naudalla tulehduksen tai infektion diagnosointi verinäytteestä eroaa pieneläimistä tai hevosista, koska naudalla valkosolujen lukumäärä ei välttämättä kohoa tulehduksen seurauksena. Akuutin faasin proteiinit saattaisivat antaa luotettavampaa tietoa tulehduksesta naudoilla kuin valkosolut.

1.1 Yleistä naudan jalkasairauksista

Nautojen jalkasairaudet ovat yleisiä ja ne aiheuttavat taloudellisia tappioita (Radostits ym. 2000). Jalkasairaudet heikentävät tiinehtymistä ja tiinehtymistulos on sitä huonompi mitä vakavampi ontuma on, lisäksi ne lisäävät kuolleisuutta ja johtavat poistoihin (Bicalho ym. 2007). Jalkasairaudet myös vähentävät maidontuotosta (Green ym. 2002, Hernandez ym. 2002). Sogstad ym. (2007) tutkimuksessa sorkkavälin ihotulehdus vähensi maidontuotosta, mutta vertymät anturassa ja kantasyöpymä näyttivät lisäävän maidontuotosta. Tulosta selittänee se, että maidontuotos mitattiin

sorkkahoitoa seuraavana päivänä, lisäksi kaikki sorkkaongelmat olivat lieviä. Amory ym. (2007) saivat päinvastaisen tuloksen: anturan haavauma ja valkoviivan repeämä vähensivät maidontuotosta selvästi, mutta sorkka-alueen ihotulehduksella ei ollut maidontuotokseen merkittävää vaikutusta, tosin maidontuotos sairailta lehmillä parani hoidon jälkeen.

Lypsylehmien ontumisen yleisyys vaihtelee eri maissa tehdyissä tutkimuksissa. Britanniassa vuosien 1989 ja 1991 välillä ontumista esiintyi 54,6%:lla lypsylehmistä (Radostits ym. 2000) ja vuosien 1997 ja 1999 välillä jopa 70% lypsylehmistä ontui jossakin vaiheessa tutkimusta (Green ym. 2002). Luoteis-Saksassa ontumista esiintyi keskimäärin 45 %:lla lypsylehmistä (Winkler & Brill 2004). Fjeldaas ym. (2007) tutkivat Norjassa lihanautojen ontumista vuonna 2003 ja saivat ontumisprosentiksi 29,6%.

90% nautojen ontumista johtuu sorkasta (Pyörälä & Tiihonen 2005). Englannissa yleisimmät ontuman aiheuttajat olivat anturan haavauma, valkoviivan repeämä, sorkkavälin ihotulehdus ja sorkkavälin ajotulehdus (Green ym. 2002, Hedges ym. 2001). Suomessa pihattonavetoiden yleisimmät sorkkasairaudet ovat valkoviivan repeämä ja piilevä sorkkakuume, mutta tartunnalliset sorkkasairaudet ovat yleistymässä (Kujala 2004). Suitian koetilalla vuonna 2003 keväällä tutkituista lypsylehmistä 61 %:lla oli vertymiä anturassa, 3 %:lla anturahaavaumia, 17 %:lla valkoviivan repeämiä ja 52%:lla kantasyöpymä tai sorkkavälin ihotulehdus (Kujala ym. 2008). Näistä ontumaa aiheuttavat yleensä anturahaavauma ja valkoviivan repeämä.

Jalkasairauksille altistavia tekijöitä on useita: kova lattia, huonot rakenteet ja ahtaus, jatkuvasti märkä alusta, sorkkahoidon laiminlyönti, ruokinta, lihavuus ja luuston rakenne (Pyörälä & Tiihonen 2005, Radostits ym. 2000). Huonosta jalkarakenteesta tavallisin esimerkki on liian suora kinner (Pyörälä & Tiihonen 2005). Toisaalta jalkasairauksia voidaan ennaltaehkäistä hyvillä olosuhteilla, puhtailla ja kuivilla kulkuväylillä, säännöllisellä sorkkahoidolla ja ruokavaliolla, joka ei aiheuta pötsin hapantumista (Guard 2004). Laiduntaminen parantaa sorkkaterveyttä ja vähentää nautojen ontumista (Hernandez-Mendo ym. 2007, Holzhauser ym. 2006, Kujala 2005).

Yhteisiä oireita kaikille jalkasairauksille ovat ontuminen, kipeän jalan kannattelu, haluttomuus liikkua, epänormaali asento ja epänormaali liikkeet (Radostits ym. 2000). Ontumaa aiheuttavat sorkkasairaudet esiintyvät yleisemmin takajaloissa (Clarkson ym. 1996, Fjeldaas ym. 2007) ja lateraalisessa kyntysessä (Clarkson ym. 1996, Dyer ym. 2007).

Sorkkasairaudet jaetaan yleensä aineenvaihdunnallisiin ja tartunnallisiin. Aineenvaihdunnallisia sorkkasairauksia ovat vertymät anturassa, anturahaavauma, valkoviivan repeämä ja sorkkakuume. Tartunnallisia sorkkasairauksia ovat sorkkavälin ihotulehdus, kantasyöpymä, sorkka-alueen ihotulehdus ja sorkkavälin ajotulehdus. Muista jalkasairauksista naudalla esiintyy yleisesti artriittia, bursiittia, selluliittia ja lymfangiittia sekä harvinaisina murtumia, osteomyeliittia, ristisidevaurioita ja lonkan dysplasiaa. (Pyörälä & Tiuhonen 2005)

1.1.1 Ontuman mittaaminen

Ontuman mittaamiseen käytetään yleisimmin Sprecher ym. (1997) julkaisemaa ontuma-asteikkoa, jossa ontumalle annetaan arvo 1 – 5 ontuman vaikeusasteen mukaan.

Arvostelussa kiinnitetään huomiota kävelyn lisäksi selän asentoon. 1 on normaali, lehmän selkä on suora seistessä ja kävellessä ja liikkuminen on normaalia. 2 on lievästi ontuva, jolloin lehmän selkä on tasainen seistessä, mutta köyry kävellessä ja liikkuminen on vielä normaalia. 3 on kohtalaisesti ontuva, jolloin selkä on köyryssä sekä seistessä että kävellessä ja liikkuminen tapahtuu lyhyellä askeleella yhden tai useamman jalan osalta. 4 on ontuva; selkä on köyryssä koko ajan, liikkuminen tapahtuu askel kerrallaan ja lehmä saattaa suosia joitakin jalkoja. 5 on vakavasti ontuva, jolloin lehmä edellisen lisäksi ei varaa painoa yhdelle tai useammalle jalalle.

Ontumaa voidaan visuaalisen arvioinnin lisäksi myös mitata, esimerkiksi ns. RDF:n eli reaction force detection järjestelmän avulla. RDF sisältää kaksi oikean ja kaksi vasemman jalan lattiapalaa, jotka toimivat vaakoina. Vaakojen painosolujen tulokset kerätään ulkoiseen mittausmoduuliin. Kun lehmä kävelee RDF:n läpi, painosolujen reaktiot tallentuvat ajan funktiona. Raajojen liikkeiden muutokset voidaan laskea terveiden lehmien tulosten perusteella, jolloin jonkin raajan vähentyneet liikkeet havaitaan heti ontumana. (Rajkondawar ym. 2002b)

Kun RDF järjestelmää verrattiin ontuman visuaaliseen tarkkailuun, kolmelle lehmälle kadestatoista saatiin eri tulos ontuman vakavuudesta, mutta ontuvien ja terveiden jaottelussa ei ollut eroja. Alustavat tulokset osoittavat, että RDF järjestelmä pystyy havaitsemaan ontuman yksilö- ja raajakohtaisesti. (Rajkondawar ym. 2002a)

Automaattisen lypsyn navetoissa ontuman havaitsemiseen on käytetty lypsyasemalle sijoitettavaa tietokoneeseen yhdistettyä neliosaista vaakaa, jonka jokainen osa mittaa sille kohdistuvan kuormituksen ja tietokone laskee lehmän kullekin

jalalle varaaman painon (Pastell ym. 2005). Suitian koetilan lypsyrobotilla on tämän tyyppinen vaaka, joka mittaa automaattisesti painon jokaisen jalan kohdalta ja tulos kirjautuu vahvistimen kautta tietokoneelle (Kujala ym. 2008). Joissakin tutkimuksissa vastaavanlainen vaaka on sijoitettu lypsyasemalta poistumisreitillä varrelle (Guard 2004).

1.2 Aineenvaihdunnalliset sorkkasairaudet

Aineenvaihdunnallisia sorkkasairauksia ovat vertymät anturassa eli piilevä sorkkakuume, anturahaavauma ja valkoviivan repeämä sekä harvinaisempina akuutti ja krooninen sorkkakuume. Anturan ja valkoviivan ongelmat liitetään sorkkakuumeen kanssa samaan oireyhtymään. Altistavista tekijöistä tärkein on kova alusta, vaikka aikaisemmin liian voimakasta väkirehuruokintaa ja karkearehun puutetta pidettiin altistavina tekijöinä (Kujala 2005). Karkearehun puute kasvavilla eläimillä ja hiehoilla näyttäisi altistavan anturan ja valkoviivan ongelmille, mutta useammin poikineilla lehmillä ruokinnalla ei enää ole niin suurta merkitystä (Offer ym. 2003). Suurimpana altistavana tekijänä on navettatyyppi, jossa lehmät joutuvat seisomaan paljon kovalla kuivikkeettomalla alustalla (Webster 2001).

Anturan ongelmat ovat yleisimpiä 61-120 päivää poikimisen jälkeen, korkean maidontuotoksen aikana (Vaarst ym. 1998). Leach ym. (1997) tutkimuksessa valkoviivan ongelmat olivat vakavimmat 9 viikkoa ja anturan ongelmat 14 viikkoa poikimisen jälkeen.

1.2.1 Vertymät anturassa

Anturan vertymiä kutsutaan myös piileväksi sorkkakuumeeksi. Se on tavallisimpia nautojen jalkasairauksista; jopa 30% lypsykarjajanaudoista sairastaa piilevää sorkkakuumetta (Heinola 2004). Piilevän sorkkakuumeen yhteydessä on havaittu merkkejä angiogeneesistä (Hirschberg & Plendl 2005).

Hiehot ovat lehmiä alttiimpia saamaan vertymiä anturaan, koska niille kehittyy suojaava rasvapatja sorkan pohjaan vasta ensimmäisen lypsykauden jälkeen (Pyörälä & Tiisonen 2005, Räber ym. 2004). Hiehoille tulee vertymiä anturaan poikimisen jälkeen herkemmin, jos sorkan laatu on ollut huono jo ennen poikimista (Kempson & Logue

1993). Lehmillä poikimisen aikainen lihavuus altistaa anturan vertymille (Vaarst ym. 1998).

1.2.2 Anturahaavauma

Anturahaavaumaa kutsutaan myös sorkkapaiseeksi, mutta sen etiologia on sisäsyntyinen. Anturahaavauman muodostuminen alkaa, kun sorkkaluu laskee alaspäin esimerkiksi piilevän sorkkakuumeen vuoksi. Vertymät anturassa voivat siis johtaa anturahaavauman kehittymiseen (Laven ym. 2002). Anturahaavauma on pitkäaikainen ja kivulias vaiva, joka yleensä aiheuttaa ontumaa ja liikkumisen vaikeutumista; lehmät joilla on anturahaavauma kävelevät paremmin pehmeällä kumipohjalla kuin kovalla sementillä (Flower ym. 2007).

Vasta tehdyn vielä julkaisemattoman suomalaisen tutkimuksen tulosten perusteella lehmän rotu näyttäisi vaikuttavan anturahaavauman riskiin (Kujala M, suullinen tiedonanto). Toisaalta sorkan epänormaali muoto on voimakkaasti yhteydessä anturahaavaumaan (Manske ym. 2002). Vähän kuitua ja paljon tärkkelystä sisältävän ruokinnan uskottiin aikaisemmin lisäävän anturahaavauman riskiä (Livesey & Fleming 1984). Biotiinilisän mahdollista suojaavaa vaikutusta anturahaavaumaan liittyen on tutkittu, ja Shigeru ym. (2000) raportoivat, että biotiinin kokonaispitoisuus seerumissa oli pienempi anturahaavaumaa sairastavilla lehmillä terveisiin verrattuna, mutta vapaan biotiinin pitoisuuksissa ei ollut eroja.

1.2.3 Valkoviivan repeämä

Valkoviiva on vain muutaman millimetrin paksuinen martosälealueen ja anturan välinen kohta sorkassa, joka on väriltään hieman vaaleampi kuin ympärillä oleva pigmentoitumaton sorkka (Dyce ym. 1996). Valkoviiva on anturan sarveisen heikoin kohta (Pyörälä & Tiuhonen 2005). Valkoviivan vetolujuus on heikompi ulkosorkassa sisäsorkkaan verrattuna, heikoimmillaan valkoviiva on takajalan ulkosorkan sivulla (Collis ym. 2004). Valkoviivan repeämä syntyykin yleensä juuri takajalan ulkosorkkaan (Collis ym. 2004, Pyörälä & Tiuhonen 2005). Valkoviivan repeämä on yleisempi lehmillä kuin hiehoilla ja sen riski kasvaa sitä suuremmaksi, mitä useamman kerran lehmä on poikinut (Pötzsch ym. 2003).

Valkoviivan repeämä alkaa martosorkan verenpurkaumista, jotka aiheuttavat sälerakenteen repeämisen. Säleet voivat irrota toisistaan myös mekaanisen vaurion seurauksena. Joka tapauksessa bakteerit pääsevät työntymään säleiden väliin ja kulkemaan syvemmälle kohti ruununrajaa tai anturan suuntaan. Sorkkaan muodostuu painetta, mikä aiheuttaa kipua ja ontumista. Verenpurkaumat syntyvät sorkan kasvaessa korkeutta. (Pyörälä & Tiihonen 2005)

Normaalissa valkoviivassa solut ovat hyvin järjestäytyneet eikä solujen väleissä ole filamentteja tai amorfista ainetta. Rakenteen heikentyessä solut erkanevat toisistaan ja hyvin huonokuntoisissa sorkissa soluväleissä on laajoilla alueilla punasoluja ja tuhoutuneita soluja. (Kempson & Logue 1993)

Lehmillä ruokintaan lisätyn biotiinin annoksella 20 mg/vrk on raportoitu vähentävän valkoviivan repeämästä johtuvaa ontumisriskiä noin puolella (Hedges ym. 2001, Pöttsch ym. 2003), mutta hiehoilla vastaavaa vaikutusta ei ole havaittu (Pöttsch ym. 2003). Pöttsch ym. (2003) huomasivat, että biotiinilisää piti syöttää yhtäjaksoisesti vähintään kuusi kuukautta, jotta ontumariski väheni merkitsevästi. Sen sijaan valkoviivan vetolujuuteen biotiinilisällä ei näyttäisi olevan vaikutusta (Collis ym. 2004).

1.2.4 Sorkkakuume eli laminiitti

Sorkkakuumeen oireita ovat jalkojen nostelu, painon vaihtaminen puolelta toiselle, rauhattomuus, haluttomuus liikkua ja lisääntynyt makailu, ontuminen, digitaalipulssin korostuminen ja sorkkien lämpö. Sorkkakuumepotilaan tyypillinen seisoma-asento on jalat ristissä. Liikkuminen on huonompaa kovalla kuin pehmeällä alustalla. Yleisoreina voi esiintyä kuumetta ja ruokahaluttomuutta. Kroonisessa sorkkakuumeessa voi esiintyä takajalkojen lihasten (gluteal, semi-tendinosus, semi-membranosus ja biceps femoris) atrofiaa. (Heinola 2004, Pyörälä & Tiihonen 2005)

Aikaisemmin ajateltiin, että sorkkakuumeelle altistaa liian voimakas väkirehuruokinta ja kuidun puute (Livesey & Fleming 1984), mutta niitä ei enää nykyään pidetä tärkeinä altistavina tekijöinä. Sen sijaan muut tulehdussairaudet sekä äkillinen siirto pehmeältä alustalta kovalle betonille altistaa sorkkakuumeelle (Heinola 2004). Virtsa ja lanta saattavat aiheuttaa sorkan sarveisen rakenteellisen hajoamisen, mikä voi edesauttaa sorkkakuumeen syntymistä (Kujala 2005).

Sorkkakuumeessa sorkkaluun ympärillä olevat kannatinmekanismina toimivat kollageenisäikeet pitenevät ja löystyvät, mikä johtaa sorkkaluun putoamiseen

sarveiskapselin sisällä. Sorkkaluu laskeutuminen aiheuttaa painetta pehmytsorkan päälle anturassa ja kannalla. Vaurio ei tapahdu heti sarveisen alla martosälealueella, vaan syvemmällä martosorkassa, lähellä sorkkaluuta. Martosorkan verenkierto häiriintyy, eikä naudalla ei ole anastomooseja marto- ja sarveissorkan välillä. (Pyörälä & Tiihonen 2005)

Sorkkakuume heikentää kasvavan sorkan laatua, mikä altistaa eläimen tartunnallisille sorkkasairauksille (Heinola 2004). Sorkkakuumeessa sorkan joustavuus vähenee ja kroonisessa laminiitissa sorkka on herkempi mekaaniselle rasitukselle (Hinterhofer ym. 2007), sorkan muoto muuttuu ja sen dorsaaliseinämään tulee harjanteita (Pyörälä & Tiihonen 2005). Kroonisessa sorkkakuumeessa sorkan mineraalikoostumus kalsiumin, sinkin ja mangaanin osalta ei kuitenkaan eroa normaaleista (Padam-Jain ym. 2006).

1.3 Tartunnalliset sorkkasairaudet

Tartunnalliset sorkkasairaudet ovat Suomessa nousemassa merkittävämpään asemaan. Tartunnallisia sorkkasairauksia ovat sorkkavälin ihotulehdus, kantasyöpymä, sorkka-alueen ihotulehdus ja sorkkavälin ajotulehdus. Euroopassa luokitellaan lisäksi sorkkavälin liikakasvu. Näistä kantasyöpymä on Suomessa yleisin. Tartunnallisille sorkkasairauksille altistaa jatkuva kosteus, virtsa, lanta ja korkea ammoniakkipitoisuus sekä liian suuri eläintiheys. Pehkupihatoissa tartunnallisia sorkkasairauksia on vähemmän. (Kujala 2005)

1.3.1 Sorkkavälin ihotulehdus

Sorkkavälin ihotulehdus on pinnallinen leesio sorkkavälissä, joka ei aiheuta ontumaa, mutta saattaa aiheuttaa painon siirtoa jalalta toiselle. Sorkkavälin ihotulehdusta aiheuttavat gram-negatiiviset ja anaerobit opportunistit bakteerit *Bacteroides melaninogenicus*, *Bacteroides nodosus* ja *Fusobacterium necrophorum*, joita esiintyy ympäristössä ja ruuansulatuskanavassa runsaasti (Kujala 2005, Pyörälä & Tiihonen 2005).

1.3.2 Kantasyöpymä

Kantasyöpymän epäillään aiheutuvan sorkkavälin ihotulehduksen seurauksena. Sitä esiintyy yleisesti Suomessa, erityisesti pihatoissa kosteissa olosuhteissa (Pyörälä & Tiihonen 2005). Vuonna 2003 kantasyöpymää esiintyi 7,8% kaikissa navetoissa ja 21,5% pihatoissa (Kujala 2005). Kantasyöpymässä kannan sarveinen tuhoutuu ja muodostuu taskuja, joihin kertyy likaa, mikä edistää sarveisen irtoamista martosorkasta (Pyörälä&Tiihonen 2005). Kantasyöpymä johtuu kroonisesta ulkoisesta altistuksesta, joten paras hoito on olosuhteiden korjaaminen ja säännöllinen sorkkahoito, jossa kannalle muodostuneet taskut avataan (Kujala 2005).

1.3.3 Sorkka-alueen ihotulehdus

Sorkka-alueen ihotulehdus on kivulias, ontumaa aiheuttava sorkkasairaus, jota esiintyy yleensä pihatoissa, erityisesti kostealla alustalla (Kujala, Pyörälä & Tiihonen 2005). Olkipohjapihatoissa sitä on vähemmän (Laven 2004). Euroopassa se on muodostunut suureksi ongelmaksi pihatoissa, mutta Suomessa sitä esiintyy jostain syystä parsinavetoissa, tosin vain muutamissa karjoissa (Pyörälä & Tiihonen 2005). Suomessa sorkka-alueen ihotulehdus on liitetty korkeatuottoisiin karjoihin tai ostoeläimiin (Kujala 2005). Sorkkavälin ihotulehdus ja kantasyöpymä voivat altistaa sorkka-alueen ihotulehdukselle (Holzhauer ym. 2006).

Sorkka-alueen ihotulehduksen leesiot ovat tyypillisesti mansikkamaisia ja sijaitsevat sorkan lähetyvillä (Kujala 2005, Pyörälä&Tiihonen 2005). Kroonisessa muodossa esiintyy papillomatoosia proliferatiivista kasvua sorkkavälin yläpuolella, voidaan puhua sorkka-alueen ihotulehduksen ulseratiivisesta ja papillomatoosista muodosta (El-Ghoul & Shaheed 2001). Tauti voi myös sekoittua sorkkavälin ihotulehdukseen, kehittää sorkkavälin ajotulehduksen tai olla täysin oireeton, hiehoille tauti puhkeaa kliiniseksi herkemmin (Kujala 2005).

Aiheuttajabakteerit ovat samoja kuin sorkkavälin ihotulehduksessa ja kantasyöpymässä, mutta näiden lisäksi pötsin spirokeettojen (*Treponema* spp.) tiedetään liittyvän sorkka-alueen ihotulehdukseen (El-Ghoul & Shaheed 2001, Elliott ym. 2007, Pyörälä&Tiihonen 2005, Zuerner ym. 2007). Spirokeettojen lisäksi ihon vaurioalueilta on eristetty myös kampylobakteereita (Shibahara ym. 2002). Pötsin toiminta ja lannan koostumus vaikuttavat taudin esiintymiseen (Kujala 2005).

Taudin ennaltaehkäisyssä laiduntaminen, talvijaloittelu ja riittävä kuidun saanti ovat tärkeitä, lisäksi ostoeläimille kannattaa käyttää karanteenia ja käsitellä jalat esim. Virkon S- liuoksella ennen muun karjan sekaan laittamista (Kujala 2005). Hoitona sorkka-alueen ihotulehdukseen on käytetty oksitetrasykliini antibioottia paikallisesti (Kujala 2005). Kokeellisessa tutkimuksessa saavutettiin antibioottihoitoa tehokkaampia tuloksia liuoksella, joka sisälsi pelkistettyä liukoista kuparia, peroksidia ja kationista agenttia (Shearer & Hernandez 2000).

1.3.4 Sorkkavälin ajotulehdus

Sorkkavälin ajotulehdus eli interdigitaalinen nekrobasilloosi on hyvin kivulias sairaus, joka aiheuttaa ontumista. Tauti on Suomessa yleinen varsinkin lihakarjatiloiilla ja kylmäkasvattamoissa, muualla Euroopassa se ei ole kovin yleinen. Lypsykarjatiloiilla sorkkavälin ajotulehdus puhkeaa usein epidemiana, esimerkiksi ilmankosteuden muuttumisen tai jonkin muun tasapainorajan ylittymiseen johtavan tekijän johdosta – tartuntapaine on yleensä ollut olemassa jo pidempään. (Kujala 2005)

Märkä ja ammoniakkipitoinen ympäristö altistaa sorkkavälin ajotulehdukselle. Tulehdus alkaa yleensä sorkkavälin ihotulehduksena, mutta tartuntapaineen kasvaessa bakteerit etenevät ihon läpi syvempiin kudoksiin aiheuttaen märkivän tulehduksen (Kujala 2005, Pyörälä & Tiihonen 2005). Sorkkavälin iho voi olla turvonnut ja siitä valuu märkäistä eritettä (Heinola 2002). Sorkkavälin ajotulehdistusta aiheuttavat bakteerit *Fusobacterium necrophorum* ja *Porphyronas asaccharolytica* ja *Bacteroides melaninogenicus* (Kujala 2005, Pyörälä & Tiihonen 2005).

Hoidossa tärkeää on sairaiden eristäminen ja kaikkien yhtäaikaista hoitoa penisilliinillä. Sairastuneet eläimet vastaavat hoitoon yleensä hyvin, mutta hoitamattomana sairaus voi edetä niveltulehdukseksi. Lääkehoidon lisäksi tilojen pesu ja desinfiointi on tärkeää. Terveiden käsittely sorkkakylpy-aineella tartunnan ennaltaehkäisemiseksi voi olla tehokasta. (Heinola 2002, Kujala 2005)

1.3.5 Sorkkavälin liikakasvu

Euroopassa sorkkavälin liikakasvu luokitellaan erilliseksi sorkkasairaudeksi. Sorkkavälin hyperplasiaa pidetään kroonisen altistuksen seurauksena, jolla voi olla myös geneettinen tausta (Kujala 2005).

1.4 Muut jalkasairaudet

Vaikka sorkkasairaudet aiheuttavat suurimman osan naudän ontumista, myös muut jalkasairaudet voivat aiheuttaa ontumista. Tässä on kuvattu yleisimpiä muualla kuin sorkassa esiintyviä jalkasairauksia naudalla.

1.4.1 Nivel tulehdus

Nivel tulehdus voi aiheutua niveleen ulottuvasta haavasta tai tulehdus voi levitä niveleen ympäröivistä kudoksista, esimerkiksi sorkkavälin ajotulehduksesta, tai hematogeenisesti esimerkiksi utareesta tai kohdusta. Nivel tulehduksia aiheuttavia bakteereita naudalla ovat stafylokokit, hemolyytiset streptokokit, koliformit, *Actinomyces pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* ja *Bacteroides melaninogenicus*. Hematogeeninen nivel tulehdus alkaa yleensä synoviitilla, mikä johtaa muutoksiin nivelrustossa ja joskus myös luussa. Synoviitti johtaa nivelnesteiden määrän lisääntymiseen. Nivel on lämmin, turvonnut ja arka. *A.pyogenes* aiheuttaa nopean ja runsaan fibriinin tuoton ja johtaa muita aiheuttajabakteereita pahempaan rustovaurioon. Kroonisessa vaiheessa nivelrustoon tulee eroosioita, muodostuu osteofyyttejä ja runsaasti granulaatiokudosta, tulehdus etenee osteomyeliitiksi. (Pyörälä & Tiihonen 2005, Radostits ym. 2000)

1.4.2 Ei-septinen artriitti

Degeneratiivinen artriitti eli ei-septinen artriitti kehittyy nivelruston vaurioituessa trauman tai ikääntymisen seurauksena. Painorasituksen vuoksi degeneratiivista artriittia esiintyy naudalla yleisimmin kintereessä, takapolvessa tai etupolvessa. Huono jalkarakenne, esimerkiksi suora kinner, puutteellinen sorkkahoito ja karkeat ruokintavirheet nuorilla eläimillä altistavat degeneratiiviselle artriitille. (Pyörälä & Tiihonen 2005)

1.4.3 Selluliitti ja bursiitti

Selluliitti eli ihon alaisen sidekudoksen tulehdus ja bursiitti eli limapussin tulehdus ovat erittäin yleisiä suomalaisilla lypsylehmillä. Molemmat aiheutuvat pitkään jatkuneen lievän trauman, esimerkiksi mekaanisen hankautumisen, seurauksena. Bursiitti on tavallisin kintereen lateraalipuolella, etupolvessa (carpal hygroma) ja takajalassa polven

alla. Ne eivät ole kivuliaita eivätkä yleensä vaadi hoitoa (paitsi ennaltaehkäisyä), mutta ihon mennessä rikki tulehdus voi levitä jännetuppiin ja niveliin. (Pyörälä & Tiihonen 2005)

1.4.4 Lymfangiitti

Imusuonen tulehdus eli lymfangiitti aiheutuu usein staasaavan trauman tai haavasta levinneen bakteeritulehduksen seurauksena. Tulehdukseen liittyvä raajan laaja-alainen turvotus johtuu imusuonten tukkeutumisesta. (Pyörälä & Tiihonen 2005)

1.4.5 Vertikaalinen murtumalinja sorkassa

Sorkan vertikaalinen murtumalinja (vertical fissure) esiintyy yleensä sorkan dorsaaliseinämässä pinnallisissa kerroksissa. Murtuma voi edetä laminojen alueelle aiheuttaen ontumaa. Kanadalaisessa tutkimuksessa verrattiin 20 murtumalinjan sorkan kovuutta 20 terveeseen sorkkaan teurastuksen jälkeen, mutta tilastollisesti merkitsevää eroa sorkissa ei ollut. Tulos viittaa siihen, ettei vertikaalisen murtuman muodostuminen johdu sorkan biomekaanisista ominaisuuksista. (Clark & Petrie 2007)

1.5 *Akuutin faasin proteiinit*

Akuutin faasin proteiineja ovat määritelmän mukaan proteiinit, joiden pitoisuus plasmassa joko nousee (positiiviset akuutin faasin proteiinit) tai laskee (negatiiviset akuutin faasin proteiinit) vähintään 25 % tulehduksen yhteydessä, pitoisuuden muutos plasmassa johtuu niiden tuotannon muutoksesta maksasoluissa (Gabay & Kushner 1999). Suurin osa akuutin faasin proteiineista on glykoproteiineja, niiden pitoisuus muuttuu tulehduksen, kudostuhoon tai infektion seurauksena (Horadagoda ym. 1999).

Tulehdus tai kuhostuho aiheuttaa nisäkkäillä akuutin faasin reaktion, jonka tehtävänä on eristää ja neutraloida patogeeneja, estää enempien patogeeneja pääsyä, minimoida kudostuho ja avustaa kudosten korjausprosessia. Akuutin faasin reaktio alkaa kaskadilla tulehduksen välittäjäaineita; sytokiineja, kemokiineja, kasvutekijöitä ja glukokortikoideja. Sytokiinit aiheuttavat positiivisten akuutin faasin proteiinien tuotannon lisääntymistä maksasoluissa ja vähentävät negatiivisten akuutin faasin

proteiinien tuotantoa. (Reviewed in Baumann & Gauldie 1994, Petersen ym. 2004, Uhlar & Whitehead 1999)

Akuutin faasin reaktiossa aktivoidut solut, pääasiassa monosyytit ja makrofagit, tuottavat ja vapauttavat sytokiineja (esimerkiksi IL-1, TNF ja IL-6). Sytokiinit aktivoivat lähellä olevia valkosoluja ja endoteelisoluja. Aktivoidut valkosolut tuottavat lisää sytokiineja ja endoteelisolut reseptoreita, selektiinejä, jotka houkuttelevat tulehduspaikalle verenkierrasta valkosoluja ja verihiutaleita. Verenkiertoon vapautetut sytokiinit indusoivat akuutin faasin proteiinien tuotantoa hepatosyyteissä ja glukokortikoidien eritystä lisämunuaisesta. Glukokortikoidit lisäävät akuutin faasin proteiinien tuotantoa maksassa ja vähentävät paikallista tulehdusta negatiivisen feedback mekanismin kautta (siteerattu Jensen & Whitehead 1998, Petersen ym. 2004, Uhler & Whitehead 1999)

Sytokiinien pitoisuus seerumissa kohoaa muutamassa tunnissa ja ne ovat usein myös hävinneet verenkierrasta muutamassa tunnissa. IL-1 tyyppisten sytokiinien indusoimien ns. ensimmäisen aallon akuutin faasin proteiinien pitoisuus seerumissa kohoaa muutamassa tunnissa ja normalisoituu myös nopeasti. Ns. toisen aallon akuutin faasin proteiinien, joiden tuotantoa stimuloivat IL-6 tyyppiset sytokiinit, pitoisuus seerumissa kohoaa myöhemmin ja saattaa pysyä koholla jopa kaksi viikkoa. Seerumin amyloidi A kuuluu ensimmäisen aallon ja haptoglobiini toisen aallon akuutin faasin proteiineihin. (siteerattu Petersen ym. 2004)

Akuutin faasin proteiinien pitoisuus naudan seerumissa kohoaa poikimisen yhteydessä (Cairolì ym. 2006, Humblet ym. 2006, Jafari ym. 2006). Akuutin faasin proteiinien pitoisuus on vasikoilla korkeampi heti syntymän jälkeen ja se laskee asteittain kolmen viikon aikana (Orro ym. 2008). Myös poron vassoilla akuutin faasin proteiinit ovat normaalia korkeammalla tasolla ensimmäisten viikkojen aikana, mikä saattaa johtua kolostrumista, joka sisältää runsaasti sytokiineja (Orro ym. 2006).

Tunnetuimpia akuutin faasin proteiineja naudalla ovat seerumin amyloidi A (SAA), haptoglobiini (Hp), α_1 -acid glykoproteiini (AGP), LBP eli lipopolysaccharide binding protein ja fibrinogeeni. Ihmisillä tunnettu akuutin faasin proteiini, C-reaktiivinen proteiini eli CRP, esiintyy myös naudan seerumissa, mutta sen pitoisuus ei muutu kudostuhon yhteydessä eikä sitä pidetä akuutin faasin proteiinina naudalla (Horadogoda ym. 1999, Maudsley ym. 1987).

1.5.1 Seerumin amyloidi A (SAA)

Seerumin amyloidi A:n (SAA) pitoisuus seerumissa lisääntyy tulehduksen yhteydessä jopa tuhatkerteiseksi (siteerattu Jensen & Whitehead 1998, Uhlar & Whitehead 1999). SAA:n pitoisuus seerumissa lisääntyy sekä kokeellisesti aiheutettujen että luonnollisten tulehdusten ja infektioiden yhteydessä (siteerattu Petersen ym. 2004), esimerkiksi ruokinnalla aiheutettu subakuutti hapanpötsi kohotti SAA:n pitoisuutta seerumissa (Gozho ym. 2007).

SAA proteiinilla on useita tehtäviä; se osallistuu kolesterolin kuljetukseen ja metaboliaan sekä tulehdusreaktion muokkaamiseen proinflammatorisen ja anti-inflammatorisen aktiivisuuden kautta. SAA:lla on sitoutumispaikka hepariinille ja sen toiminta muistuttaa muiden adheesioproteiinien, kuten fibronectiinin ja kollagenin toimintaa. (Urieli-Shoval ym. 2000)

Seerumin amyloidi A1 (SAA 1) ja seerumin amyloidi A2 (SAA2) tuotetaan maksassa ja niiden tuotanto lisääntyy akuutin faasin reaktion aikana (siteerattu Jensen & Whitehead 1998, Larson ym. 2006, Urieli-Shoval 2000). Akuutin faasin reaktiossa sytokiinit lisäävät SAA:n tuotantoa muuttamalla transkriptiofaktoreiden määriä eri kudoksissa ja lisäämällä glukokortikoidien tuotantoa; glukokortikoidit lisäävät SAA:n tuotantoa maksassa (siteerattu Jensen & Whitehead 1998; Uhler & Whitehead 1999). SAA esiintyy yleensä lipoproteiineihin sitoutuneena (Gabay & Kushner 1999, siteerattu Petersen ym. 2004).

Seerumin amyloidi A3 (SAA3) tuotetaan maitorauhasen epiteelisoluissa (Larson ym. 2006). SAA3:n geeniekspressio maitorauhasen epiteelisoluissa lisääntyy sekä gram-positiivisten että gram-negatiivisten bakteerien vaikutuksesta (Larson ym. 2006). SAA:n pitoisuus maidossa lisääntyy utaretulehduksen yhteydessä (Berry ym. 2005, Jacobsen ym. 2005, Larson ym. 2006). Mastitiitin yhteydessä maidossa esiintyvä SAA on peräisin sekä paikallisesta synteesistä että maksassa syntetisoidusta SAA:sta, joka on kulkeutunut verenkierron mukana utareeseen ja maitoon (Jacobsen ym. 2005).

SAA:n synteesiä tapahtuu paikallisesti myös nivelessä tulehduksen yhteydessä ainakin ihmisillä ja ilmeisesti myös hevosilla. Paikallisen synteesin lisäksi artriitti lisää SAA:n synteesiä maksassa ja kohottaa nivelnesteeseen SAA pitoisuuden lisäksi myös seerumin SAA:n pitoisuutta. (Jacobsen ym. 2006a,b)

SAA:n käyttö tulehduksen indikaattorina on takerrellut sen eristämiseen ja mittaamiseen liittyvien vaikeuksien takia (Horadogoda ym. 1999). Nykyään SAA:n analyysi tehdään Trideltan kaupallisella kitillä, joka perustuu epäsuoraan ELISA

menetelmään. Menetelmä on työläs ja sitä on vaikea käyttää muuten kuin tieteellisissä tutkimuksissa.

1.5.2 Haptoglobiini

Haptoglobiinin (Hp) pitoisuus seerumissa kohoaa akuutin tulehduksen yhteydessä (Humblet & Godeau 2005) ja pitoisuuden nousu korreloi muiden tulehduksen välittäjäaineiden pitoisuuksien kanssa (Zhao ym. 2007). Haptoglobiinin pitoisuuden on raportoitu kohoavan useiden tulehdusten, kuten vasikoiden hengitystietulehduksen (Godson ym. 1996, Nikunen ym. 2007), metriitin (Chan ym. 2004) ja ”naulan” eli traumaattisen retikuloperitoniitin (Hirvonen & Pyörälä 1998) sekä abdominaalikirurgian (Hirvonen & Pyörälä 1998) yhteydessä. Myös rasvamaksa ja syömättömyys lisäävät haptoglobiinin pitoisuutta seerumissa (Katoh ym. 2002).

Haptoglobiini sitoo punasolujen hajotessa vapautuvaa hemoglobiinia ja siirtää sitä retikuloendotelialisoluihin. Sitomalla vapaata hemoglobiinia Hp estää raudan vapautumisen ja toimii siten bakteriostaattisesti, koska bakteerit tarvitsevat rautaa kasvuunsa. (Nienstedt ym. 2000, Petersen ym. 2004, Zhao ym. 2007)

Haptoglobiini osallistuu myös angiogeneesiin, mikä on tärkeä tekijä kroonisissa tulehdussairauksissa (Cid ym. 1993). Esimerkiksi haavan paranemista Hp edesauttaa stimuloimalla angiogeneesiä (Gabay & Kushner 1999). Haptoglobiinilla vaikuttaisi olevan myös akuuttia tulehdusreaktiota inhiboivia vaikutuksia; sen on raportoitu inhiboivan granulosityttien kemotaksiaa ja fagosytoosia *in vitro* (Rossbacher ym. 1999).

Haptoglobiinin tuotanto tapahtuu maksassa. Akuutin faasin reaktion aikana maksan haptoglobiini geenin ekspressio lisääntyy moninkertaiseksi sytokiiniin IL-1 ja IL-6 sekä glukokortikoidien vaikutuksesta (Marinkovic & Baumann 1990). Haptoglobiinia on myös terveiden nautojen veren granulosityttien granuloissa (Cooray ym. 2007). Neutrofiilien granuloista on löydetty haptoglobiinin ja matriksin metalloproteiinaasi MMP-9:n muodostamia komplekseja, joilla on sekä Hp:n että MMP-9:n biokemiallisia ominaisuuksia *in vitro* (Bannikov ym. 2007). Samanlaisia komplekseja on havaittu myös naudan seerumissa akuutin tulehduksen yhteydessä (Bannikov ym. 2007).

Haptoglobiini on tetrameerinen eli neliketjuinen ($\alpha\beta$)₂ toisiinsa disulfidisilloin liitetty glykoproteiini, jolla on kolme fenotyyppiä (Zhao ym. 2007). Ihmisen Hp 2-2 fenotyyppiä vastaava naudan haptoglobiini ja sen hemoglobiinia sitova rakenne ovat

huomattavasti suuremmat, lisäksi naudan molekyylissä on yksi -SH ryhmä enemmän, mikä saattaa aiheuttaa molekyylin polymeerirakenteen (Lai ym. 2007). Naudan haptoglobiini esiintyy albumiiniin sitoutuneena ja polymeerin molekyylipaino on yli 1000 kDa (siteerattu Petersen ym. 2004).

Akuutin faasin reaktion lisäksi munuaisvika tai keltatauti lisäävät haptoglobiinin määrää verenkierrossa. Toisaalta seerumin vapaan hemoglobiinin lisääntyessä, esimerkiksi akuutin hemolyysin seurauksena, haptoglobiini ”häviää” verenkierrosta. (siteerattu Petersen ym. 2004)

1.5.3 α_1 -hapan (acid) glykoproteiini (AGP, orosomucoid, seromucoid)

α_1 -hapan glykoproteiini (AGP) on akuutin faasin proteiinina naudalla, jonka pitoisuus kohoaa akuutin faasin reaktion aikana (Hochepied ym. 2003, Horadagoda ym. 1999, Lögdberg & Wester 2000). AGP kuuluu immunokaliinien perheeseen, lipokaliineihin, jotka muokkaavat tulehdusvastetta ja immuunirektiota (Hochepied ym.2003, Lögdberg & Wester 2000).

AGP:n molekyylipaino on 41-43 kDa ja se on voimakkaasti (45%) glykosyloitu. AGP:n glykosylaatio on erilainen eri tulehdusten yhteydessä ja glykosylaatio vaikuttaa AGP:n toimintaan. Glykosylaatiota säätelevät sytokiinit, hormonit ja kasvutekijät. AGP:n biologinen tehtävä ei ole täysin selvä, vaikka tiedetään, että AGP pystyy sitoutumaan moniin eksogeenisiin ja endogeenisiin aineisiin ja kuljettamaan niitä. (Hochepied ym.2003, Lögdberg & Wester 2000).

Tulehduksen yhteydessä naudan AGP:n pitoisuus seerumissa kohoaa 0,9 mg/ml pitoisuuteen normaalista 0,3 mg/ml ja kohonneella pitoisuudella on osoitettu olevan monosyyttien apoptoosia inhiboiva vaikutus *in vitro* (Ceciliani ym. 2007). Laven ym. (2002) tutkimuksessa AGP:n pitoisuus oli koholla poikimisen jälkeisinä viikkoina, mutta anturahaavauma tai valkoviivan repeämä ei kohottanut AGP:n pitoisuutta.

1.5.4 LBP

LBP eli lipopolysakkaridia sitova proteiini on maksan tuottama akuutin faasin proteiini, joka sitoutuu Gram-negatiivisten bakteerien solusienämän lipopolysakkarideihin (LPS). LBP-LPS kompleksi sitoutuu neutrofiilien ja makrofagien CD14 reseptoreihin, mikä johtaa sytokiinien vapautumiseen. LBP on 50 kDa kokoinen polypeptidi, joka vapautuu

maksasta verenkiertoon glykosylaation jälkeen 58-60 kDa kokoisena glykoproteiinina. (Bochsler ym. 1996, Hamann ym. 2005, Horadagoda ym. 1995, Tobias ym. 1999, Zweigner ym. 2006)

Akuutin faasin reaktion aikana LBP:n pitoisuus seerumissa kohoaa; säätely tapahtuu sytokiinien IL-1 ja IL-6 vaikutuksesta LBP geenin transkriptiota lisäämällä (Zweigner ym. 2006). Naudalla LBP pitoisuuden on todettu kohoavan kokeellisesti aiheutettujen infektioiden seurauksena: *Pasteurella haemolytica* aiheutti LBP pitoisuuden kohoamista seerumissa (Horadagoda ym. 1995) ja *E.coli* mastiitti kohotti LBP pitoisuutta maidossa (Vangroenweghe ym. 2004).

Lipopolysakkarideja on pehmeää (smooth) ja karkeaa (rough) muotoa. Karkean muodon eliminaatio on riippuvainen ainoastaan LBP:n pitoisuudesta, mutta pehmeän muodon eliminaatiossa LBP:n lisäksi CD14 reseptorin läsnäolo on välttämätön. CD14 reseptorin aktivaatio johtaa solukalvon signaalinvälitysyksikön aktivoitumiseen. Signaalinvälitykseen osallistuvat TLR-4 reseptori (Toll like reseptor 4) ja avustava proteiini MD-2. Säätelystä on tärkeää, että isäntä tunnistaa lipopolysakkaridit eli endotoksiinit nopeasti, koska elimistöön päästessään ne aiheuttavat sepsiksen. Vaste ei kuitenkaan saa olla liian voimakas, koska liian suuri LBP pitoisuus estää signaalin välittymisen CD14 reseptorien kautta. (Hamann ym. 2005)

Viime aikaisissa tutkimuksissa LBP:n on osoitettu sitovan ja kuljettavan myös Gram-positiivisia bakteereita. Lisäksi LBP:llä on immunomodulatorista aktiivisuutta korkeammilla pitoisuuksilla. (Zweigner ym. 2006)

1.5.5 Fibrinogeeni (Fb)

Tulehduksen akuutissa vaiheessa fibrinogeenin pitoisuus seerumissa nousee (Pyörälä & Tiihonen 2005). Esimerkiksi traumaattinen retikuloperitoniitti eli ”naula” kohottaa naudan plasman fibrinogeenin pitoisuutta (Hirvonen & Pyörälä 1998).

Fibrinogeeni aiheuttaa endoteelisolujen adheesiota, proliferaatiota ja levittäytymistä, jotka kaikki edistävät kudosten korjautumista (siteerattu Gabay & Kushner 1999).

Kaupallinen Glutal-testi hyödyntää fibrinogeenipitoisuuden kohoamista tulehduksen seurauksena. Septinen artriitti eli niveltulehdus kohottaa fibrinogeenin pitoisuutta jonkin verran – polyartriitissa fibrinogeenipitoisuus on yleensä 6-7 g/l – ja artriitissa glutaltestin hyytyminen on nopeutunut normaaliin verrattuna, mutta se ei ole yhtä nopeaa kuin naulassa (Pyörälä & Tiihonen 2005).

Anturan vertymien yhteydessä fibrinogeenipitoisuus ei kohonnut (Laven ym. 2004).

1.5.6 Muita plasman proteiineja, jotka toimivat akuutin faasin tekijöinä

Muita akuutin faasin proteiineja ovat Seruloplasmiini (Ceruloplasmin, Cp), α_1 -proteinaasi inhibiittori, α_2 -makroglobuliini, α_1 -antikymotrypsiini ja ITIH4, joka tunnetaan myös major acute phase proteiinina (MAP).

α_1 -proteinaasi inhibiittori ja α_1 -antikymotrypsiini toimivat proteolyyttisten entsyymien antagonisteina, α_1 -antikymotrypsiini inhiboi myös superoksidi anionin tuotantoa. Ne ovat anti-inflammatorisesti toimivia akuutin faasin proteiineja. (siteerattu Gabay & Kushner 1999).

ITIH4 on noin 120 kDa kokoinen akuutin faasin proteiini naudalla. Vastaava ja saman kokoinen akuutin faasin proteiini (MAP) on aikaisemmin tunnettu sioilla. ITIH4 pitoisuuden on osoitettu kohoavan seerumissa kokeellisesti aiheutetun mastiitin ja hengitystietulehduksen (BRSV) seurauksena. (Pineiro ym. 2004)

1.5.7 Muita tulehduksen indikaattoreita

Fibrinogeenin lisäksi glutaltestissä on mukana gammaglobuliini, jonka pitoisuus nousee kroonisessa tulehduksessa (Pyörälä & Tiihonen 2005). Seerumin lihasentsyymit, kreatiniinifosfokinaasi (CPK) ja aspartaattiaminotransferaasi (AST), ovat herkkiä lihassoluvaurion indikaattoreita. Seerumin kalsiumin ja fosforin sekä alkaalisen fosfataasin (AFOS) pitoisuudet eivät ole kovin herkkiä osteodystrofian indikaattoreita; kalsiumin ja fosforin pitoisuudet voivat pitkään pysyä normaaleina ja kohota vasta, kun osteodystrofian muutokset ovat jo pitkälle kehittyneitä. Osteomalasiassa kalsiumin ja fosforin pitoisuudet laskevat, mutta alkaalisen fosfataason pitoisuus kohoaa. (Radostits ym. 2000)

1.5.8 Naudan valkosolut

Naudan valkosolujen lukumäärä veressä ei välttämättä muutu tulehduksen tai infektion seurauksena, eikä valkosolujen mittaaminen siten anna luotettavaa tietoa tulehduksesta.

Horadogoda ym. (1999) eivät havainneet valkosolujen määrissä eroa akuutin ja kroonisen tulehduksen välillä. Gänheim ym. (2007) tutkimuksessa vasikoiden valkosolujen määrä pysyi koko kuuden viikon tutkimusjakson ajan samalla tasolla ($1,5 \times 10^9/l$), vaika vasikoilla esiintyi hengitystietulehdusta ja ripulia ja akuutin faasin proteiinien pitoisuudet muuttuivat.

Joissakin tutkimuksissa on raportoitu neutropeniaa ja lymfopeniaa tulehduksen seurauksena. Esimerkiksi kokeellisesti aiheutettu *Mycoplasma bovis* mastiitti aiheutti ohimenevän neutropenian, lymfopenian ja trombositopenian. (Kauf ym. 2007)

2 AINEISTO JA MENETELMÄT

Tutkimuksessa oli mukana 16 ontuvaa lehmää ja 17 tervettä lehmää kontrollina. Tutkimus aloitettiin marraskuussa 2004 ja se jatkui tammikuuhun 2006 saakka. Tutkitut lehmät ovat Suitian automaattilypsynavetan friisiläisiä lypsylehmiä. Kaikilla lehmillä oli tutkimushetkellä vähintään kolme viikkoa aikaa viimeisimmästä poikimisesta.

Jokaiselta kokeessa mukana olevalta lehmältä otettiin yhteensä neljä verinäytettä: ensimmäinen eli 1-näyte otettiin heti, kun ontuma havaittiin; 2-näyte otettiin 3 päivän kuluttua; 3-näyte 7 päivän ja 4-näyte 14 päivän kuluttua ensimmäisestä näytteenotosta. Kontrollieläimet valittiin kliinisen tutkimuksen perusteella terveistä eläimistä ja yhdestä kontrollista otettiin verinäyte aina samalla kertaa, kun ontuma ensimmäisen kerran havaittiin. Ontuvien eläinten diagnoosit selvitettiin sorkkahoidon yhteydessä; 8 lehmällä oli anturahaavauma, 6 lehmällä valkoviivan repeämä ja kahdella lehmällä molemmat yhtä aikaa.

Verinäytteistä tutkittiin seerumin amyloidi A (SAA) ja haptoglobiini. Seerumin amyloidi-A määritettiin epäsuoralla ELISA-menetelmällä (Phase SAA kit, Tridelta Ltd) valmistajan naudalle tarkoitetun ohjeen mukaan. Haptoglobiinin määrittämiseen käytettiin menetelmää, joka perustuu haptoglobiinin kykyyn sitoutua hemoglobiiniin (Makimura & Suzuki 1982), sillä muutoksella alkuperäiseen menetelmään, että substraattina käytettiin tetrametyylibenzidiiniä (0,06 mg/ml) (Alsemgeest ym. 1994).

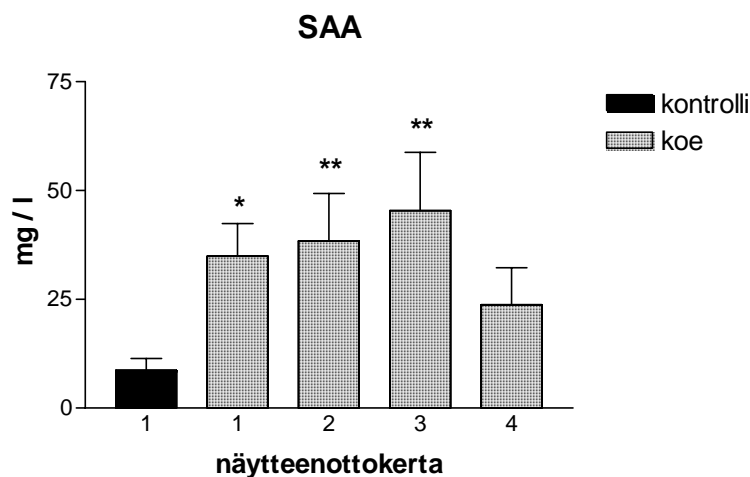
Kontrollieläinten tuloksia verrattiin sairaiden eläinten eri näytteenottokertojen tuloksiin regressio sekamallilla. Eläin oli mallissa satunnainen tekijä. Malli vertaili kontrollieläinten tuloksia sairaiden eläinten kolmeen näytteenottokertaan. Toistuvan

vertailun virheen vältämiseksi käytettiin Bonferronin kertoimia. Analyysissa käytettiin SAA:n logaritmimuunnosta ja Hp:lla käänteismuunnosta normaalijakauman saavutamiseksi.

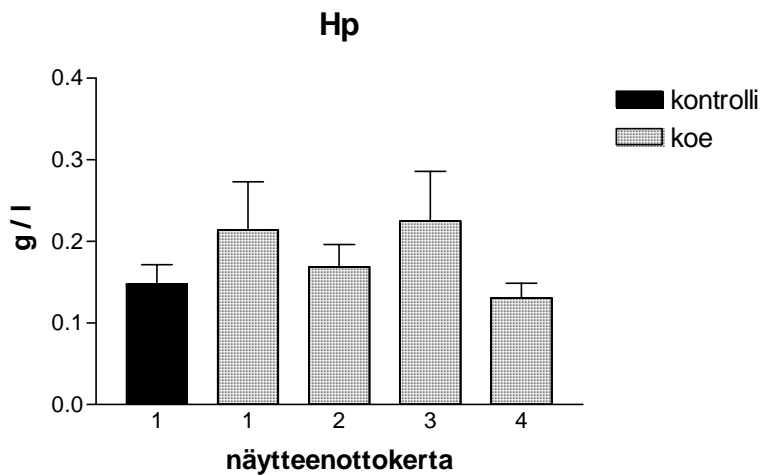
Tilastollinen analyysi tehtiin R 2.6.0 ohjelmalla (R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria 2006; ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>).

3 TULOKSET

SAA:n pitoisuus nousi tilastollisesti merkitsevästi valkoviivan repeämää ja anturahaavaumaa sairastavilla eläimillä näytteissä 1, 2 ja 3 kontrolleihin verrattuna. Haptoglobiinipitoisuuksien keskiarvot olivat kontrolleja korkeammat, mutta ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä.



Kuva 1. Keskiarvo (+/- SEM). *= eroaa kontrollista ($p < 0,05$), **= eroaa kontrollista ($p < 0,01$)



Kuva 2. Keskiarvo (+/- SEM)

4 POHDINTA

Verinäytteistä ensimmäinen eli 1-näyte on tulosten kannalta merkityksellisin, koska SAA:n pitoisuus seerumissa kohoaa jo muutamassa tunnissa (siteerattu Petersen ym. 2004). Toisaalta aikaisemmissa tutkimuksissa (Heegaard ym. 2000) SAA:n ja Hp:n pitoisuuksien huippuarvot on havaittu päivien 5-8 välillä. Tämän tutkimuksen 3-näyte otettiin 7 päivän kuluttua ontuman havaitsemisesta, joten se sijoittuu oletetun huippupitoisuuden ajankohtaan. Viimeinen eli 4-näyte otettiin kahden viikon kuluttua ontuman havaitsemisesta, joten Hp:n pitoisuuden mahdollinen pitkään koholla pysyminen olisi voitu havaita (siteerattu Petersen ym. 2004). Tämän työn aineisto oli melko pieni, mutta monissa tutkimuksissa on käytetty pienempääkin eläinmäärää. Mielestäni aineisto on riittävän kokoinen ja aineiston luotettavuutta lisää se, että kontrollieläinten lukumäärä on yhtä suuri kuin kokeessa mukana olevien eläinten.

Muissa tutkimuksissa käytetyt normaalit viitearvot SAA:lle ja Hp:lle vaihtelevat suuresti tutkimusten välillä. Horadogoda ym. (1999) määrittivät normaaliarvoiksi SAA:lle alle 8,8 mg/l ja Hp:lle alle 0,35 g/l eri ikäisten ja rotuisten terveiden nautojen verinäytteitä tutkimalla. Englannissa teurastamolla tehdyssä tutkimuksessa saatiin eri arvot lypsylehmille ja lihakarjalle; SAA lypsylehmillä $51 \pm 38 \mu\text{l/ml}$ ja lihakarjalla $29 \pm 21 \mu\text{l/ml}$ sekä Hp lypsylehmillä $0,02 \pm 0,03 \text{ mg/ml}$ ja lihakarjalla $0,11 \pm 0,08 \text{ mg/ml}$ (Tourlomoussis ym. 2004). Taiwanissa tehdyssä tutkimuksessa naudan normaaliksi Hp arvoksi saatiin $83,6 \pm 34,1 \text{ mg/l}$ ja laskennallisesti perustasoksi määritettiin alle 73,6

mg/l (Chan ym. 2004). Yksilöiden välillä pitoisuuksissa ei ollut suuria eroja, eikä ilman lämpötila tai tiinehtyminen vaikuttaneet pitoisuuksiin (Chan ym. 2004).

Toisaalta kovan rasituksen, fyysisen ja psyykkisenkin stressin on raportoitu kohottavan akuutin faasin proteiinien pitoisuuksia (Gabay & Kushner 1999). Tulosten tulkinnan kannalta tärkeää on, että kontrollieläimet ovat samoissa olosuhteissa ja niitä on kohdeltu samalla tavalla kuin kokeessa mukana olevia eläimiä. Tällöin perustason eroavaisuudet on mahdollisuuksien mukaan minimoitu.

Ontuvilla naudoilla on havaittu tulehdukseen liittyvien immuunijärjestelmän geenien, kuten IL-2, MMP-13, CCR5 ja IL-10, ekspresion lisääntymistä (Almeida ym. 2007), mikä viittaa akuutin faasin reaktion aktivoitumiseen.

Tämänkin tutkimusten tulosten perusteella akuutin faasin reaktio käynnistyi ontuvilla naudoilla, mikä näkyi seerumin amyloidi A:n (SAA) pitoisuuden kohoamisena seerumissa. Haptoglobiinin (Hp) pitoisuuksien keskiarvot kohosivat, vaikka Hp:n pitoisuuksissa ei tilastollisesti merkitsevää muutosta tapahtunutkaan. Todennäköisesti sama paikallinen tulehdusreaktio, joka aiheuttaa ontumisen, käynnistää myös akuutin faasin reaktion.

SAA:n pitoisuuden nousu oli aikaisempien tutkimusten tulosten perusteella oletettavaa, sillä aikaisemmissakin tutkimuksissa on havaittu, että SAA reagoi naudalla akuuttiin tulehdukseen herkemmin ja nopeammin kuin Hp (Akerstedt ym. 2007, Gånheim ym. 2007, Heegaard ym. 2000, Horadogoda ym. 1999). Tulokset voimistavat sitä käsitystä, että SAA on merkittävä akuutin faasin proteiini naudalla. Gånheim ym. (2007) ja Svensson ym. (2007) ovat omien tutkimustulostensa perusteella ehdottaneet, että SAA:lla voisi olla diagnostistakin käyttöä. Tämän tutkimuksen tulosten perusteella näyttää siltä, että SAA:ta voisi käyttää apuna ainakin tulehduksen havaitsemisessa ja tulehduksen voimakkuuden arvioinnissa.

Haptoglobiini on myös merkittävä akuutin faasin proteiini naudalla ja sen pitoisuuksien on raportoitu kohoavan naudan seerumissa mm. useissa eri vasikoiden hengitystietulehduksia käsittelevissä tutkimuksissa (Heegaard ym. 2000, Nikunen ym. 2007, Svensson ym. 2007). Hp:n pitoisuuksien on osoitettu olevan suuremmat akuutin kuin kroonisen tulehduksen yhteydessä (Bannikov ym. 2007, Horadogoda ym. 1999). Heegaard ym. (2000) totesivat haptoglobiinin reagoivan kliinisiä oireita vastaavalla tavalla; mitä vakavammat kliiniset oireet, sitä enemmän Hp:n pitoisuus kohosi. Tässä tutkimuksessa kliinisten oireiden voimakkuuksia ei verrattu. Hp:n keskiarvot kuitenkin kohosivat, mikä saattoi johtua sorkkahoidon aiheuttamasta sairauden akutisoitumisesta

tai sorkkahoitoon ja verinäytteen ottoon liittyvästä stressistä. Fyysinen ja psyykinenkin stressi voi kohottaa akuutin faasin proteiinien pitoisuuksia (Gabay & Kushner 1999). Tässä tutkimuksessa kontrollieläimiltä ei ensimmäisen näytteenottokerran jälkeen otettu enää verinäytteitä, joten niihin ei näytteenotosta mahdollisesti aiheutunutta stressiä voi verrata.

Kroonisessa tulehduksessa naudan seerumin amyloidi A:n ja haptoglobiinin välillä on havaittu korrelaatio (Takahashi ym. 2007). Tässä tutkimuksessa verinäytteet otettiin heti, kun ontuma havaittiin, joten tulehdus ei ollut krooninen. Ehkä SAA reagoi paremmin akuuttiin tulehdukseen, varsinkin jos kliiniset oireet eivät ole kovin voimakkaat. Lievän fysiologisen stressin, kuten kylmyyden, on raportoitu kohottavan seerumin SAA pitoisuutta huomattavasti normaalista, kun taas Hp pitoisuus ei samoissa olosuhteissa muuttunut (Saco ym. 2007).

Laven ym. (2004) tutki ensimmäisen laktaatiokauden hiehojen anturan vertymien yhteyttä akuutin faasin proteiineihin Englannissa. Verinäytteistä tutkittiin plasman totaaliproteiini, albumiini, fibrinogeeni ja haptoglobiini. Tutkittujen proteiinien pitoisuudet eivät kohonneet anturan vertymien yhteydessä. Tulos on periaatteessa yhteneväinen tämän tutkimuksen tulosten kanssa, koska haptoglobiinin pitoisuudessa ei havaittu merkitsevää muutosta, mutta SAA:n pitoisuutta Laven ym. eivät mitanneet. Olisi ollut mielenkiintoista tietää, reagoiko SAA anturan vertymien yhteydessä.

Jotkut tutkijat ovat esittäneet akuutin faasin proteiinien käyttöä subkliinisten tulehdusten havaitsemiseen, akuutin ja kroonisen tulehduksen erottamiseen, prognoosin välineenä tai jopa karjan terveydentilan indikaattorina (Humblet & Godeau 2005, siteerattu Petersen ym. 2004). Siihen ei tämän tutkimuksen tulosten perusteella voi ottaa kantaa.

Tulosten perusteella SAA:n pitoisuus naudan seerumissa kohoaa anturan haavaumien ja valkoviivan repeämän yhteydessä. Näissä sorkkasairauksissa kudostuho tai tulehdus siis aktivoi akuutin faasin reaktion, joka käynnistää elimistön puolustusjärjestelmän. SAA:n pitoisuus kohoaa osana akuutin faasin reaktiota. Tutkimustulosten perusteella näyttää siltä, että SAA:ta voisi käyttää apuna tulehduksen voimakkuuden arvioinnissa. Jatkotutkimuksena olisi mielenkiintoista selvittää, kohoaaako SAA:n pitoisuus lievempien sorkkasairauksien, esimerkiksi anturan vertymien yhteydessä. Akuutin faasin proteiinien yhteyttä muihinkin sorkkasairaksiin voisi tutkia, ainakin tulehduksellisten sorkkasairauksien yhteydessä SAA:n pitoisuuden voisi olettaa kohoavan.

Kirjallisuusluettelo:

Akerstedt M, Persson Waller K, Sternesjö A. Haptoglobin and serum amyloid A in relation to the somatic cell count in quarter, cow composite and bulk tank milk samples. J Dairy Res 2007, 74: 198-203.

Almeida PE, Weber PS, Burton JL, Tempelman RJ, Steibel JP, Zanella AJ. Gene expression profiling of peripheral mononuclear cells in lame dairy cows with foot lesions. Vet Immunol Immunopathol 2007, 120: 234-245.

Alsemgeest SPM, Kalsbeek HC, Wensing T, Koeman JP, van Ederen AM, Gruys E. Concentrations of SAA (SAA) and haptoglobin (Hp) as parameters of inflammatory diseases in cattle. Vet Quart 1994,16: 21-23.

Amory JR, Barker ZE, Wright JL, Mason SA, Blowey RW, Green LE. Associations between sole ulcer, white line disease and digital dermatitis and the milk yield of 1824 dairy cows on 30 dairy cow farms in England and Wales from February 2003 – November 2004. Prev Vet Med 2008, 83: 381-391.

Bannikov GA, Mattoon JS, Abrahamsen EJ, Premanandan C, Green-Church KB, Marsh AE, Lakritz J. Biochemical and enzymatic characterization of purified covalent complexes of matrix metalloproteinase-9 and haptoglobin release by bovine granulocytes in vitro. Am J Vet Res 2007, 68: 995-1004.

Baumann H, Gauldie J. The acute phase response. Immun Today 1994, 15: 74-80.

Berry EA, Hillerton JE, Torgerson P. Use of acute phase proteins in bovine milk. British Mastitis Conference 2005: 25-30.

Bicalho RC, Vokey F, Erb HN, Guard CL. Visual locomotion scoring in the first seventy days in milk: impact on pregnancy and survival. J Dairy Sci 2007, 90: 4586-4591.

- Bochsler PN, Yang Z, Murphy CL, Carroll RC. Purification of lipopolysaccharide-binding protein from bovine serum. *Vet Immun Immunopat* 1996, 51: 303-314.
- Cairolì F, Battochio M, Veronesi MC, Brambilla D, Conserva F, Eberini I, Wait R, Gianazza E. Serum protein pattern during cow pregnancy: Acute-phase proteins increase in the peripartum period. *Electrophoresis* 2006, 27: 1617-1625.
- Ceciliani F, Pocacqua V, Miranda-Ribera A, Bronzo V, Lecchi C, Sartorelli P. α_1 -acid glycoprotein modulates apoptosis in bovine monocytes. *Vet Immun Immunopat* 2007, 116: 145-152.
- Chan JP, Chu CC, Fung HP, Chuang ST, Lin YC, Chu RM, Lee SL. Serum haptoglobin concentration in cattle. *J Vet Med Sci* 2004, 66: 43-46.
- Cid M, Grant D, Hoffman G, Auerbach R, Fauci A, Kleinman H. Identification of haptoglobin as an angiogenic factor in sera from patients with systemic vasculitis. *J Clin Invest* 1993, 91: 977-985.
- Clark C, Petrie L. Fracture toughness of bovine claw horn from cattle with and without vertical fissures. *Vet J* 2007, 173: 541-547.
- Clarkson MJ, Faull WB, Manson FJ, Murray RD, Sutherst JE, Downham DY. Epidemiology of lameness in dairy cattle: description and analysis of foot lesions. *Vet Rec* 1996, 138: 586-591.
- Collis VJ, Green LE, Blowey RW, Packington AJ, Bonser RHC. Testing white line strength in the dairy cow. *J Dairy Sci* 2004, 87: 2874-2880.
- Cooray R, Waller KP, Venge P. Haptoglobin comprises about 10% of granule protein extracted from bovine granulocytes isolated from healthy cattle. *Vet Immun Immunopat* 2007, 119: 310-315.
- Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. Textbook of veterinary anatomy. 2.p.W.B. Saunders Company, United States of America 1996.

Dyer RM, Neerchal NK, Tasch U, Wu Y, Dyer P, Rajkondawar PG. Objective determination of claw pain and its relationship to limb locomotion score in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2007, 90: 4592-4602.

El-Ghoul W, Shaheed BI. Ulcerative and papillomatous digital dermatitis of the pastern region in dairy cattle: clinical and histopathological studies. *DTW* 2001,108: 216-222.

Elliott MK, Alt DP, Zuerner RL. Lesion formation and antibody response induced by papillomatous digital dermatitis-associated spirochetes in a murine abscess model. *Infect Immun* 2007, 75: 4400-4408.

Fjeldaas T, Nafstad O, Fredriksen B, Ringdal G, Sogstad AM. Claw and limb disorders in 12 Norwegian beef-cow herds. *Acta Vet Scand* 2007, 49: 24.

Flower FC, de Passillé AM, Weary DM, Sanderson DJ, Rushen J. Softer, higher-friction flooring improves gait of cows with and without sole ulcers. *J Dairy Sci* 2007, 90:1235-1242.

Gabay C, Kushner I. Mechanisms of disease: Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999, 340: 448-454.

Godson DL, Campos M, Attah-Poku SK, Redmond MJ, Cordeiro DM, Sethi MS, Harland RJ, Babiuk LA. Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. *Vet Immun Immunopat* 1996, 51: 277-292.

Gozho GN, Krause DO, Plaizier JC. Ruminal lipopolysaccharide concentration and inflammatory response during grain-induced subacute ruminal acidosis in dairy cows. *J Dairy Sci* 2007, 90: 856-866.

Green LE, Hedges VJ, Schukken YH, Blowey RW, Packington AJ. The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows. *J Dairy Sci* 2002, 85: 2250-2256.

Gånheim C, Alenius S, Persson Waller K. Acute phase proteins as indicators of calf herd health. *Vet J* 2007, 173: 645-651.

Grönlund U, Hallén Sandgren C, Persson Waller K. Haptoglobin and serum amyloid A in milk from dairy cows with chronic sub-clinical mastitis. *Vet Res* 2005, 36: 191-198.

Guard C. Animal welfare and claw diseases. In: Zemljic B (toim.) Proceedings of the 13th international symposium and 5th conference on lameness in ruminants, Maribor, Slovenia 2004, s.155-157.

Hamann L, Alexander C, Stamme C, Zähringer U, Schumann RR. Acute-phase concentrations of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein inhibit innate immune cell activation by different LPS chemotypes via different mechanisms. *Infect Immun* 2005, 73: 193-200.

Hedges J, Blowey RW, Packington AJ, O'Callaghan CJ, Green LE. A longitudinal field trial of the effect of biotin on lameness in dairy cows. *J Dairy Sci* 2001, 84: 1969-1975.

Heegaard PMH, Godson DL, Toussaint MJM, Tjørnehoj K, Larsen LE, Viuff B, Ronsholt L. The acute phase response of haptoglobin and serum amyloid A (SAA) in cattle undergoing experimental infection with bovine respiratory syncytial virus. *Vet Immun Immunopat* 2000, 77: 151-159.

Heinola T. Ruokintaperäiset sorkka- ja jalkasairaudet. *Jokasorkka* 2004, 4: 6-7.

Heinola T. Sorkkaviat lihanautatilan näkökulmasta. *Jokasorkka* 2002, 12: 6-8.

Hernandez J, Shearer JK, Webb DW. Effect of lameness on milk yield in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc* 2002, 220: 640-644.

Hernandez-Mendo O, von Keyserlingk MA, Veira DM, Weary DM. Effects of pasture on lameness in dairy cows. *J Dairy Sci* 2007, 90: 1209-1214.

Hinterhofer C, Apprich V, Ferguson JC, Stanek C. Modulus of elasticity and dry-matter content of bovine claw horn affected by the changes of chronic laminitis. *Vet J* 2007, 174: 605-609.

Hirschberg RM, Plendl J. Pododermal angiogenesis and angioadaptation in the bovine claw. *Microsc Res Tech* 2005, 66: 145-155.

Hirvonen J, Pyörälä S. Acute-phase response in dairy cows with surgically-treated abdominal disorders. *Vet J* 1998, 155: 53-61.

Hochebied T, Berger FG, Baumann H, Libert C. α_1 -acid glycoprotein: an acute phase protein with inflammatory and immunomodulating properties. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003, 14: 25-34.

Holzhauer M, Hardenberg C, Bartels CJ, Frankena K. Herd- and cow-level prevalence of digital dermatitis in the Netherlands and associated risk factors. *J Dairy Sci* 2006, 89: 580-588.

Horadagoda NU, Eckersall PD, Andrew L, Gallay P, Heumann D, Gibbs HA. Characterisation of bovine lipopolysaccharide binding protein and the in vivo acute phase response to *Pasteurella haemolytica* Type A. *Vet Immun Immunopat* 1995, 49: 61-74.

Horadagoda NU, Knox KMG, Gibbs HA, Reid SWJ, Horadogoda A, Edwards SER, Eckersall PD. Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation. *Vet Rec* 1999, 144: 437-441.

Humblet MF, Godeau JM. Haptoglobin, an acute phase protein in cattle. *Ann Med Vet* 2005, 149: 20-23.

Humblet MF, Guyot H, Boudry B, Mbayahi F, Hanzen C, Rollin F, Godeau JM. Relationship between haptoglobin, serum amyloid A, and clinical status in a survey of dairy herds during a 6-month period. *Vet Clin Pat* 2006, 35: 188-193.

Jacobsen S, Thomsen MH, Nanni S. Concentrations of serum amyloid A in serum and synovial fluid from healthy horses and horses with joint disease. *Am J Vet Res* 2006, 67: 1738-1742.

Jacobsen S, Niewold TA, Kornalijslijper E, Toussaint MJM, Gryus E. Kinetics of local and systemic isoforms of serum amyloid A in bovine mastitic milk. *Vet Immun Immunopat* 2005, 104: 21-31

Jacobsen S, Niewold TA, Halling-Thomsen M, Nanni S, Olsen E, Lindegaard C, Andersen PH. Serum amyloid A isoforms in serum and synovial fluid in horses with lipopolysaccharide-induced arthritis. *Vet Immun Immunopat* 2006, 110: 325-330..

Jafari A, Emmanuel DGV, Christopherson RJ, Thompson JR, Murdoch GK, Woodward J, Field CJ, Ametaj BN. Parenteral administration of glutamine modulates acute phase response in postparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 2006, 89: 4660-4668.

Jensen LE, Whitehead AS. Regulation of serum amyloid A protein expression during the acute-phase response. *Biochem J* 1998, 334: 489-503.

Katoh N, Oikawa S, Oohashi T, Takahashi Y, Itoh F. Decreases of apolipoprotein B-100 and A-I concentrations and induction of haptoglobin and serum amyloid A in nonfed calves. *J Vet Med Sci* 2002, 64: 51-55.

Kauf ACW, Rosenbusch RF, Paape MJ, Bannerman DD. Innate immune response to intramammary *Mycoplasma bovis* infection. *J Dairy Sci* 2007, 90: 3336-3348.

Kempson SA, Logue DN. Ultrastructural observations of hoof horn from dairy cows: changes in the white line during the first lactation. *Vet Rec* 1993, 132: 524-527.

Kujala M. Naudan tartunnalliset sorkkasairaudet Suomessa. Suomen eläinlääkäriliiton luentokokoukset 2005, 86-90.

Kujala M.: Tarttuvat sorkkasairaudet ovat tulevaisuuden navetan koetinkiviä, KM-Vet 2004.

Kujala M, Pastell M, Soveri T. Use of force sensors to detect and analyse lameness in dairy cows. *Vet Rec* 2008, 162: 365-368.

Lai YA, Lai IH, Tseng CF, Lee J, Mao SJ. Evidence of tandem repeat and extra thiol-groups resulted in the polymeric formation of bovine haptoglobin: a unique structure of Hp 2-2 phenotype. *J Biochem Mol Biol* 2007, 40: 1028-1038.

Larson MA, Weber A, McDonald TL. Bovine serum amyloid A3 gene structure and promoter analysis: induced transcriptional expression by bacterial components and the hormone prolactin. *Gene* 2006, 380: 104-110.

Laven RA. Impact of housing type on prevalence and severity of digital dermatitis. In: Zemljic B (toim.) Proceedings on the 13th international symposium and 5th conference on lameness in ruminants, Maribor, Slovenia 2004, s.143-145.

Laven RA, Livesey CT, May SA. The relationship between the acute phase response and the development of sole and white-line haemorrhages. In: Shearer JK (toim.) Proceedings of the 12th international symposium on lameness in ruminants, Orlando, USA 2002, s. 388-389.

Laven RA, Livesey CT, May SA. Relationship between acute phase proteins and hoof horn haemorrhages in postpartum first-lactation heifers. *Vet Rec* 2004, 154: 389-395.

Leach KA, Logue DN, Kempson SA, Offer JE, Ternent HE, Randall JM. Claw lesions in dairy cattle: development of sole and white line haemorrhages during the first lactation. *Vet J* 1997, 154: 215-225.

Livesey CT, Fleming FL. Nutritional influences on laminitis, sole ulcer and bruised sole in friesian cows. *Vet Rec* 1984, 114: 510-512.

Lögberg L, Wester L. Immunocalins: a lipocalin subfamily that modulates immune and inflammatory responses. *Biochim Biophys Acta* 2000,1482: 284-297.

Makimura S, Suzuki N. Quantitative determination of bovine serum haptoglobin and its elevation in some inflammatory diseases. *Jpn J Vet Sci* 1982, 44: 15-21.

Manske T, Hultgren J, Bergsten C. Prevalence and interrelationships of hoof lesions and lameness in Swedish dairy cows. *Prev Vet Med* 2002, 54: 247-263.

Marinkovic S, Baumann H. Structure, Hormonal Regulation and Identification of the Interleucin-6- and Dexamethasone-responsive element of the Rat Haptoglobin Gene. *Mol Cell Biol* 1990, 10: 1573-1583.

Maudsley S, Rowe IF, Beer FC, De Munn ES, Herbert J, Feinstein A, Pepys MB. Identification and isolation of two pentraxins from bovine serum. *Clin Exp Immun* 1987, 67: 662-673.

Nielsen BH, Jacobsen S, Andersen PH, Niewold TA, Heegaard PM. Acute phase protein concentrations in serum and milk from healthy cows, cows with clinical mastitis and cows with extramammary inflammatory conditions. *Vet Rec* 2004, 154: 361-365.

Nienstedt W, Rautiainen E, Pernaa M, Salmi U. Lääketieteen termit. 3. p. Gummerus Kirjapaino Oy, Jyväskylä, 2000.

Nikunen S, Härtel H, Orro T, Neuvonen E, Tanskanen R, Kivelä S-L, Sankari S, Aho P, Pyörälä S, Saloniemi H, Soveri T. Association of bovine respiratory disease with clinical status and acute phase proteins in calves. *Comp Immun Microbiol Infect Dis* 2007, 30: 143-151.

Offer JE, Leach KA, Brocklehurst S, Logue DN. Effect of forage type on claw horn lesion development in dairy heifers. *Vet J* 2003, 165: 221-227.

Orro T, Jacobsen S, Lepage JP, Niewold T, Alasuutari S, Soveri T. Temporal changes in serum concentrations of acute phase proteins in newborn dairy calves. *Vet J* 2008, 176: 182-187.

Orro T, Nieminen M, Tamminen T, Sukura A, Sankari S, Soveri T. Temporal changes in concentrations of serum amyloid-A and haptoglobin and their associations with gain in neonatal reindeer calves. *Comp Immun Microbiol Infect Dis* 2006, 29: 79-88.

Padam-Jain, Sharma VK, Mahesh-Kumar, Munna-Lade: Mineral content of hoof horn in cross-bred cows suffering from hoof disorder. *Ind Vet J* 2006, 26: 133-134.

Pastell M, Takko H, Gröhn H, Hautala M, Poikalainen V, Praks J, Veermäe I, Kujala M, Ahokas J. Assessing cow's welfare: eighing the cow in a milking robot. *Biosystems Engineering* 2005: 1-7.

Petersen HH, Nielsen JP, Heegaard PMH. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet Res* 2004, 35: 163-187.

Pineiro M, Andres M, Iturralde M, Carmona S, Hirvonen J, Pyörälä S, Heegaard PMH, Tjørnehøj K, Lampreave F, Pineiro A, Alava MA. ITIH4 (inter-alpha-trypsin inhibitory heavy chain 4) is a new acute-phase protein isolated from cattle during experimental infection. *Infect Immun* 2004, 72: 3777-3782.

Pyörälä S, Tiihinen T. *Nautojen Sairaudet*. Helsingin Yliopisto, Eläinlääketieteellinen tiedekunta, Oppimateriaalia 6. 2005.

Pöttsch CJ, Collis VJ, Blowey RW, Packington AJ, Green LE. The impact of parity and duration of biotin supplementation on white line disease lameness in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2003, 86: 2577-2582.

Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. *Veterinary Medicine, A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. 9. p. Harcourt publishers Ltd, China 2000.

Rajkondawar PG, Lefcourt AM, Neerchal NK, Dyer RM, Varner MA, Erez B, Tasch U. Technical note: The development of an objective lameness scoring system for dairy herds: Pilot study. *Trans ASAE* 2002a, 45: 1123-1135.

Rajkondawar PG, Tasch U, Lefcourt AM, Erez B, Dyer RM, Varner MA. A system for identifying lameness in dairy cattle. *Appl Eng Agric* 2002b, 18: 87-96.

Roszbacher J, Wagner L, Pasternack MS. Inhibitory effect of haptoglobin on granulocyte chemotaxis, phagocytosis and bactericidal activity. *Scand J Immun* 1999, 50: 399-404.

Räber M, Lischer ChJ, Geyer H, Ossent P. The bovine digital cushion – a descriptive anatomical study. *Vet J* 2004, 167: 258-264.

Saco Y, Fina M, Gimenez M, Pato R, Piedrafita J, Bassols A. Evaluation of serum cortisol, metabolic parameters, acute phase proteins and faecal corticosterone as indicators of stress in cows. *Vet J*. In press.

Shearer JK, Hernandez J. Efficacy of two modified nonantibiotic formulations (Victory) for treatment of papillomatous digital dermatitis in dairy cows. *J Dairy Sci* 2000, 83: 741-745.

Shibahara T, Ohya T, Ishii R, Ogihara Y, Maeda T, Ishikawa Y, Kadota K. Concurrent spirochaetal infections of the feet and colon of cattle in Japan. *Aust Vet J* 2002, 80: 497-502.

Shigeru S, Toshihiro I, Toshiyuki S, Hideya O. Serum biotin concentrations in dairy cows with sole ulcer, heel erosion and foot rot. *J JVMA* 2000, 53: 136-139.

Sogstad ÅM, Østerås O, Fjeldaas T, Refsdal AO. Bovine claw and limb disorders at claw trimming related to milk yield. *J Dairy Sci* 2007, 90: 749-759.

Sprecher DJ, Hostetler DE, Kaneene JB. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. *Theriogenology* 1997, 47: 1179-1187.

- Svensson C, Liberg P, Hultgren J. Evaluating the efficacy of serum haptoglobin concentration as an indicator of respiratory-tract disease in dairy calves. *Vet J* 2007, 174: 288-294.
- Takahashi E, Uzuka Y, Tanabe S, Satoh M, Furuoka H. Serum amyloid A and haptoglobin levels in bovine amyloidosis. *J Vet Med Sci* 2007, 69: 321-323.
- Tobias PS, Tapping RI, Gegner JA. Endotoxin interactions with lipopolysaccharide-responsive cells. *Clin Infect Dis* 1999, 28: 476-481.
- Tourlomoussis P, Eckersall PD, Waterson MM, Buncic S. A comparison of acute phase protein measurements and meat inspection findings in cattle. *Foodborne Pathog Dis* 2004, 1: 281-290.
- Uhlir CM, Whitehead AS. Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur J Biochem* 1999, 265: 501-523.
- Urieli-Shoval S, Linke RP, Matzner Y. Expression and function of serum amyloid A, a major acute-phase protein, in normal and disease states. *Curr Opin Hematol* 2000, 7: 64-69.
- Vaarst M, Hindhede J, Enevoldsen C. Sole disorders in conventionally managed and organic dairy herds using different housing systems. *J Dairy Res* 1998, 65: 175-186.
- Vangroenweghe F, Rainard P, Paape M, Duchateau L, Burvenich C. Increase of *Escherichia coli* inoculum doses induces faster innate immune response in primiparous cows. *J Dairy Sci* 2004, 87: 4132-4144.
- Webster AJF. Effects of housing and two forage diets on the development of claw horn lesions in dairy cows at first calving and in first lactation. *Vet J* 2001, 162: 56-65.
- Winkler C, Brill G. Lameness prevalence and behavioural traits in cubicle housed dairy herd – a field study. In: Zemljic B (toim.) Proceedings on the 13th international

symposium and 5th conference on lameness in ruminants, Maribor, Slovenia 2004, s.160-161.

Zhao C, Annamalai L, Guo C, Kothandaraman N, Koh S, Zhang H, Biswas A, Choolani M. Circulating Haptoglobin Is an Independent Prognostic Factor in the Sera of Patients with Epithelial Ovarian Cancer. *Neoplasia* 2007, 9: 1-7.

Zuerner RL, Heidari M, Elliott MK, Alt DP, Neill JD. Papillomatous digital dermatitis spirochetes suppress the bovine macrophage innate immune response. *Vet Microbiol* 2007, 125: 256-264.

Zweigner J, Schumann RR, Weber JR. The role of lipopolysaccharide-binding protein in modulating the innate immune response. *Microbes Infect* 2006, 8: 946-952.